引用:陈一,郭清城,郭梦慧,等. 奥马珠单抗 α(CMAB007)上市后变更的上游工艺表征与设计空间构建[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2026,39(6): 1002-1012.

Citation: Chen Yi, Guo Qingcheng, Guo Menghui, Cui Xinyu, Wu Congyuan, Meng Di, Wang Chenguang, Zhou Chaoxin, Fan Wenqiang, Ji Lusha, Qian Weizhu, Hou Sheng, Li Jun, Sun Ziqiao, Wang Xuekun, Guo Yajun, Zhang Dapeng, Xu Jin, Guo Huaizu. Upstream process characterization and design space for post-approval change of omalizumab α (CMAB007)[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2026,39(6): 1002-1012.

文章编号 1672-6634(2026)06-1002-11 **DOI** 10.19728/j.issn1672-6634.2026010010

奥马珠单抗 α(CMAB007)上市后变更的上游工艺表征与设计空间构建

陈一[1,2],郭清城[1,2,3,4],郭梦慧[1,2],崔新宇[1,2],吴聪圆[1,2],孟迪[1,2],王晨光[1,2,3,4],周朝欣[1,2,3,4],范文强[1,2,3,4],冀芦沙[1,2,3],钱卫珠[1,2,3,4],侯盛[1,2,3,4],李军[1,2,3],孙梓乔[1,2,3],王学堃[1,2,3],郭亚军[1,2,3],张大鹏[1,2,3,4],徐进[1,2,3],郭怀祖[1,2,3]

(1. 聊城大学 药学与食品工程学院、大分子药物与规模化制备全国重点实验室,山东 聊城 252059;2. 张江生物技术有限公司 大分子药物与规模化制备全国重点实验室、国家药品监督管理局治疗类单抗质量控制重点实验室,上海 201203;
3. 温州医科大学 药学院、大分子药物与规模化制备全国重点实验室,浙江 温州 325035;
4. 泰州迈博太科药业有限公司,江苏 泰州 225316)

摘要 在生物制品的生命周期中,上市后工艺变更是持续优化生产、确保工艺稳定与先进性的关键环节。本研究以首个国产抗 IgE 抗体奥马珠单抗 α(CMAB007)为例,首次系统开展了基于质量源于设计(QbD)理念的上游工艺表征与设计空间构建研究,旨在为其上市后工艺变更提供依据。首先通过失效模式与影响分析(FMEA)识别潜在关键工艺参数,并建立与生产规模具有可比性的缩小工艺模型。在此基础上,综合运用单因素实验与实验设计(DOE)相结合的策略,解析 CMAB007 上游工艺参数对产品关键质量属性的影响机制与交互作用。确定了既能保证产品质量可比性、又能显著提升产物滴度的稳健工艺操作空间。结果表明,优化后的工艺不仅使产品滴度得到显著提升,且关键质量属性与原工艺以及奥马珠单抗原研产品保持高度可比性,缩小模型与生产规模间表现出良好的相关性。本研究为抗体药物上市后工艺变更提供了一个从风险评估、系统工艺表征到设计空间构建与验证的完整方法学范例。

关键词 奥马珠单抗 α; 工艺表征; 上市后变更; 质量可比性; 设计空间

中图分类号 TQ464 **文献标志码** A

本文电子版文后有增强出版内容。

Upstream process characterization and design space for post-approval change of omalizumab α (CMAB007)

CHEN Yi[1,2], GUO Qingcheng[1,2,3,4], GUO Menghui[1,2], CUI Xinyu[1,2], WU Congyuan[1,2], MENG Di [1,2], WANG Chenguang[1,2,3,4], ZHOU Chaoxin[1,2,3,4],

收稿日期:2026-01-21

基金项目:国家自然科学基金项目(22304067);上海东方英才项目(CYQN2023031);光岳青年学者创新团队项目(LCUGYTD 2022-04);山东省自然科学基金(ZR2023QB257,ZR2023QB196)资助

通信作者:郭怀祖,男,汉族,博士,教授,博士生导师,上海产业菁英高层次人才,研究方向:抗体药物与靶向治疗,E-mail:guohuaizu@163.com;徐进,男,汉族,博士,副教授,研究方向:抗体药物分析,E-mail:xujinn_1985@163.com;张大鹏,男,汉族,博士,教授,研究方向:抗体药物与靶向治疗,E-mail:bigbirdzcn@163.com。

FAN Wenqiang[1,2,3,4], JI Lusha[1,2,3], QIAN Weizhu[1,2,3,4], HOU Sheng[1,2,3,4], LI Jun[1,2,3], SUN Ziqiao[1,2,3], WANG Xuekun[1,2,3], GUO Yajun[1,2,3], ZHANG Dapeng[1,2,3,4], XU Jin[1,2,3], GUO Huaizu[1,2,3]

(1. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, School of Pharmaceutical Sciences and Food Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 2. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Therapeutic Monoclonal Antibodies, Shanghai Zhangjiang Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 4. Taizhou Mabtech Pharmaceuticals Co., Ltd., Taizhou 225316, China)

Abstract Post-approval process changes are crucial for continuous optimization of biologics manufacturing, ensuring process stability and advanced control throughout the product lifecycle. This study, taking the first domestically developed anti-IgE antibody, Omalizumab α (CMAB007), as a case, systematically conducted its upstream process characterization and design space development based on the Quality by Design (QbD) principle for the first time, aiming to provide scientific support for its post-approval process change. The research initially identified potential critical process parameters through Failure Mode and Effects Analysis (FMEA) and successfully established a scaled-down process model demonstrating good comparability with the 1000 L production scale. On this basis, a combined strategy of single-factor experiments and Design of Experiments (DOE) was employed to thoroughly investigate the impact mechanisms and interactions of upstream process parameters on critical quality attributes (CQAs) of CMAB007. A robust process operating space was defined that ensures product quality comparability while significantly increasing product titer, and its robustness was verified under worst-case conditions. The results demonstrated that the optimized process not only significantly enhanced product titer but also maintained high comparability of all CQAs with both the original process and the originator Omalizumab product. Furthermore, the scaled-down model exhibited good correlation and scalability with the production scale. This study provides a complete methodological paradigm for post-approval changes of antibody drugs, covering risk assessment, systematic process characterization, design space development, and verification.

Keywords omalizumab α; process characterization; post-approval change; quality comparability; design space

0　引言

单抗药物凭借其高度的靶向特异性和卓越的临床疗效，已成为治疗肿瘤、自身免疫性疾病等复杂疾病的核心手段，在全球医药市场中占据举足轻重的地位[1-3]。随着诸多重磅抗体药物的专利集中到期，生物类似药的开发与上市进程显著加快，在为降低医疗负担、提升药物可及性带来机遇的同时，也使得行业竞争日趋激烈。在生物制品的全生命周期中，上市后工艺变更是持续优化生产、确保工艺稳定与先进性的关键环节[4,5]。出于提升产品质量、生产效率、降低制造成本以及适应产能扩张等商业与运营需求，生物药在获批上市后进行工艺优化与变更，也成为企业维持市场竞争力的必然选择与普遍实践[6]。

然而，工艺变更的产业诉求与严格的药品监管科学之间存在一定的制约，任何生产工艺的变更都必须建立在坚实的科学证据之上，以确保变更前后产品的关键质量属性高度可比[7-9]。这不仅是满足全球药品监管机构(如 FDA、EMA、NMPA)对可比性研究的法规基石，更是保障药物临床安全性与有效性的根本前提[10-12]。因此，如何构建并实施一套科学、稳健且可被充分论证的上市后工艺变更策略，已成为生物制药工业界与学术界共同面临的关键课题[13]。

“质量源于设计(Quality by Design，QbD)”理念及其指导下的工艺表征[14,15]，为应对这一挑战提供了系

统化的方法论框架[16]。QbD强调在工艺开发之初即预先定义目标产品质量概况,并基于对产品与工艺的深入科学理解及主动的风险管理,设计生产工艺与控制策略[14,17];工艺表征则是实践QbD的技术路径,旨在通过设计严谨的实验,识别并量化影响关键质量属性(Critical Quality Attribute, CQAs)的关键工艺参数(Critical Process Parameters, CPPs),进而建立能够持续保证产品质量的稳健的设计空间[18]。尽管QbD与工艺表征在创新生物药及生物类似药开发阶段已得到广泛应用与认可[19,20],但聚焦于抗体药物上市后这一特定工艺变更场景,针对上游工艺的具体优化(例如,旨在提高细胞培养表达量的参数调整[21]),如何系统性地应用QbD框架,并完整展示从风险评估、关键参数识别、多变量模型构建到生产模型验证的技术链条,目前的报道仍比较少。特别是,如何精确阐明上游培养参数与单抗药物复杂的电荷异质性、糖基化修饰等CQAs之间的定量关系[22-24],并确保基于缩小规模模型建立的优化工艺能够成功转移并稳定应用于商业化生产规模,是当前实践中亟待深入探索的难点。

基于此,本研究选择以首个国产抗IgE抗体奥马珠单抗α(CMAB007)的上市后上游工艺变更作为具体实证案例[25,26]。旨在系统性地阐述与展示如何通过严谨的QbD驱动的上游工艺表征研究,为抗体类药物的上市后工艺变更决策提供坚实的科学依据与全面的风险评估。本研究首次对CMAB007开展了系统的上游工艺表征与设计空间构建研究,综合运用失效模式与影响分析(FMEA)、缩小模型建立与验证、单因素实验及实验设计(DOE)等策略,深入探究并量化关键上游工艺参数对一系列CQAs的影响机制与交互作用。在此基础上,成功建立并验证了一个与目标生产规模具备高度预测相关性的缩小工艺模型,最终确定一个兼具质量可比性与显著工艺增效的稳健操作空间。

本研究不仅旨在为CMAB007的上市后工艺变更申报提供关键数据支持,有效管控注册与质量风险,更致力于为抗体药物乃至其他生物制品的全生命周期工艺管理,提供一个具备高度系统性、可操作性与可迁移性的方法论框架及实践范例[27],以期为行业应对类似的科学与监管挑战提供有价值的参考,推动基于科学和风险的先进制药理念在产业界的深入实践。

1 材料与方法

1.1 细胞系

奥马珠单抗α(CMAB007)由经基因工程改造的自主CHO-K1悬浮细胞表达,工程细胞株由泰州迈博太科药业有限公司提供。

1.2 试剂与耗材

CHOM-B03基础培养基、CHOM-S03补充培养基、CHOM-S04补充培养基均购自上海迈泰君奥生物技术有限公司。

1.3 仪器与设备

3 L反应器(Applikon ez2-control);5 L反应器(Bioengineering RALF ADVANCED);生物安全柜(Airtech BSC-1304 Ⅱ A2);二氧化碳振荡培养箱(Infors Multitron Pro);pH计(METTLER TOLEDO S220);细胞活力分析仪(Beckman Coulter Vi-Cell XR);蒸汽灭菌器(山东新华医疗 SGLS-A-810S);酶标仪(Molecular devices Spectra Max 190)。

1.4 工艺背景

本研究所用的目标产品为奥马珠单抗α(CMAB007),为首个上市的国产抗IgE抗体。生产细胞系采用经基因工程改造的自主CHO-K1悬浮细胞,用于表达奥马珠单抗α。在上市后工艺变更研究中,旨在优化上游细胞培养工艺以降低产品质量风险及提升产能。细胞使用专有的细胞培养基进行悬浮培养。原始工艺采用基础培养基CHOM-B02,并补加CHOM-S01。经工艺优化开发,变更后,培养基系统升级至第二代,基础培养基更换为CHOM-B03,补料培养基相应调整为CHOM-S03/CHOM-S04。此项变更为本研究工艺表征的起点。

1.5 基于QbD与FMEA的工艺风险评估

遵循QbD理念,在开展实验研究前,对CMAB007上游细胞培养工艺进行系统风险评估。采用FMEA作为核心工具,对从培养基准备、种子扩增到生产培养的全流程潜在失效模式进行识别与优先级排序。评估

基于三个维度：严重度(Severity，S)、发生率(Occurrence，O)和可检测性(Detection，D)。每项按 2～10 分评分，计算风险优先级数(RPN＝S × O × D)。通过跨部门(工艺开发、生产、质控)协作，筛选出对产品质量(如电荷异质性、糖基化、聚集体)及工艺性能(如滴度、细胞生长)潜在影响较高的参数，为后续表征实验的重点与范围界定提供科学依据。

1.6　缩小工艺模型的建立与确认

为在受控条件下高效研究工艺参数，并确保结果可放大至生产规模，建立了与生产规模生物反应器具有可比性的缩小模型。采用 3～5 L 生物反应器(Applikon、Bioengineering 等)作为缩小系统。

规模缩放原则：基于几何相似性与关键工程参数等效原则进行缩放。对于体积无关参数(pH、温度、溶解氧设定点)，直接保持一致。对于体积相关参数：

搅拌速度：依据单位体积功率输入(P/V)相等原则，并结合叶尖速度校核与平台经验，确定 3～5 L 反应器的搅拌速度范围，以确保混合与剪切力条件与生产规模相似。

通气策略：深层与表面通气速率基于单位体积通气速率(VVM)原则进行线性缩放，并根据小型反应器特性进行微调，同时配备基于溶解氧(DO)和 pH 反馈的自动控制系统，以模拟生产的动态气体供应。

模型验证：运行多批(n＝3～6)缩小模型实验，与 6 批生产规模历史数据进行对比。从工艺性能(如活细胞密度、细胞活力、葡萄糖代谢、最终滴度)和关键质量属性(如离子交换色谱酸性峰比例、疏水相互作用色谱峰分布、高甘露糖比例等)两个层面进行可比性分析。采用双单侧 t 检验(TOST)进行统计等效性分析，等效区间设定为生产规模数据标准差的 3 倍。验证结果表明，缩小模型在工艺性能和产品质量属性上与生产规模具有统计等效性，确认为可靠的工艺研究平台。

1.7　单因素范围研究

在已验证的缩小模型上，针对通过 FMEA 识别出的潜在关键工艺参数进行单因素范围研究，旨在初步探索各参数对工艺性能及 CQAs 的影响趋势并确定其合理操作边界。

研究参数与范围：选取温度(生长期：36、37、38 ℃；产物合成期：32、33、34 ℃)、pH(6.8，7.0，7.2)、DO(20%，40%，60%)和接种密度(3.0×10^6、5.5×10^6、8.0×10^6 cells/mL)四个参数，在涵盖并略宽于原工艺规范值的范围内进行实验。

分析方法：监测细胞生长、代谢(葡萄糖、乳酸)及最终产物滴度。收获样品后，采用毛细管电泳(CE-SDS)分析纯度，离子交换色谱(IEX-HPLC)分析电荷异质性，疏水相互作用色谱(HIC-HPLC)分析疏水变异体，亲水相互作用色谱(HILIC-UPLC/FD)分析 N-糖谱(重点关注高甘露糖 Man5 比例)。通过比较不同参数水平下的响应，识别出对 CQAs 有显著影响的参数，并将其确定为需通过 DOE 进一步研究的潜在关键工艺参数。

1.8　DOE 交互作用分析与设计空间构建

为深入探究关键工艺参数间的复杂交互作用，并定量建立其与 CQAs 的关联模型，采用全因子实验设计。

DOE 方案：基于单因素研究结果，选取温度(T)、pH、DO 和接种密度四个因子。采用全因子设计两水平，并增加 3 个中心点以评估曲率和模型误差。实验在 3～5 L 缩小模型中进行。

响应变量与数据分析：响应变量包括关键工艺性能指标(最终滴度)及关键质量属性(IEX 酸性峰比例、主峰比例、HIC 变异体比例、高甘露糖 Man5 比例等)。采用标准最小二乘法进行模型拟合，通过方差分析(ANOVA)识别具有统计学显著性(p＜0.05)的主效应及二阶交互效应。

设计空间定义与最差条件验证：基于建立的多元回归模型，运用蒙特卡洛模拟(Monte Carlo Simulation)预测在给定的参数变异下，CQAs 超出质量标准的风险概率。将风险低于预定阈值(如缺陷率小于 1%)的多维参数组合区域定义为稳健的操作空间，并进一步确定可接受范围(Acceptable Range，AR)。为验证设计空间的边界稳健性，进行了最差条件研究，即在参数组合的极端条件(如最高温度与最低 pH 组合)下运行工艺，确认即使在最差条件下，CQAs 仍能符合质量标准，从而证明了工艺对参数波动的耐受性。

2　结果与讨论

2.1　基于 FMEA 的系统性风险评估

实验研究之前，本研究遵循 QbD 理念，对 CMAB007 上游细胞培养工艺进行了全面的 FMEA 分析(补

充表 1)。通过跨部门(工艺开发、生产、质量控制和工程)的协作,系统评估了从培养基配制、种子扩增到生产培养全流程的潜在失效模式。通过对潜在失效模式进行量化评分,成功识别出对 CQAs 和关键工艺性能指标(如滴度)具有潜在高风险的参数。

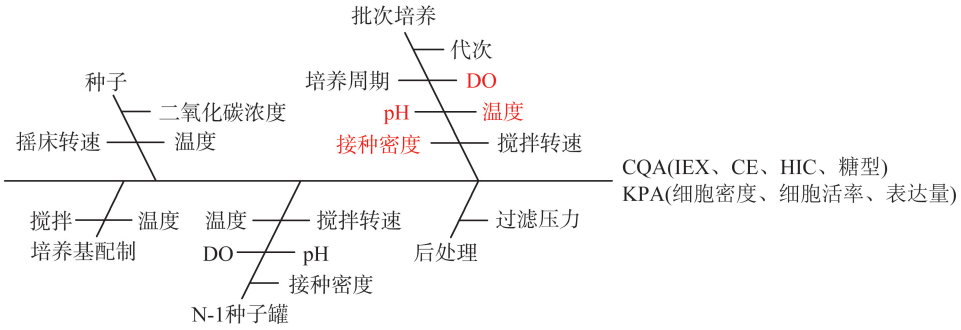


图 1 上游工艺 FMEA 风险评估结果

Fig. 1 FMEA risk assessment results for upstream processes

如图 1 所示,评估结果将温度、pH、DO 和接种密度识别为潜在关键工艺参数(pCPPs)。这些参数不仅可能直接影响细胞生长、代谢和产物表达(滴度),更与单抗的电荷异质性(IEX 谱)、疏水变异体(HIC 谱)及糖基化修饰(高甘露糖比例)等复杂 CQAs 密切相关[21]。例如,温度波动可能通过影响内质网折叠环境和糖基化酶活性,直接导致酸性峰比例或特定糖型含量的改变[28,29]。此次基于 FMEA 的量化风险评估,为后续实验设计提供了明确的风险优先级,确保了表征资源集中于对产品质量和工艺稳健性影响最大的环节,体现了上市后变更研究中"基于风险"的科学决策理念。

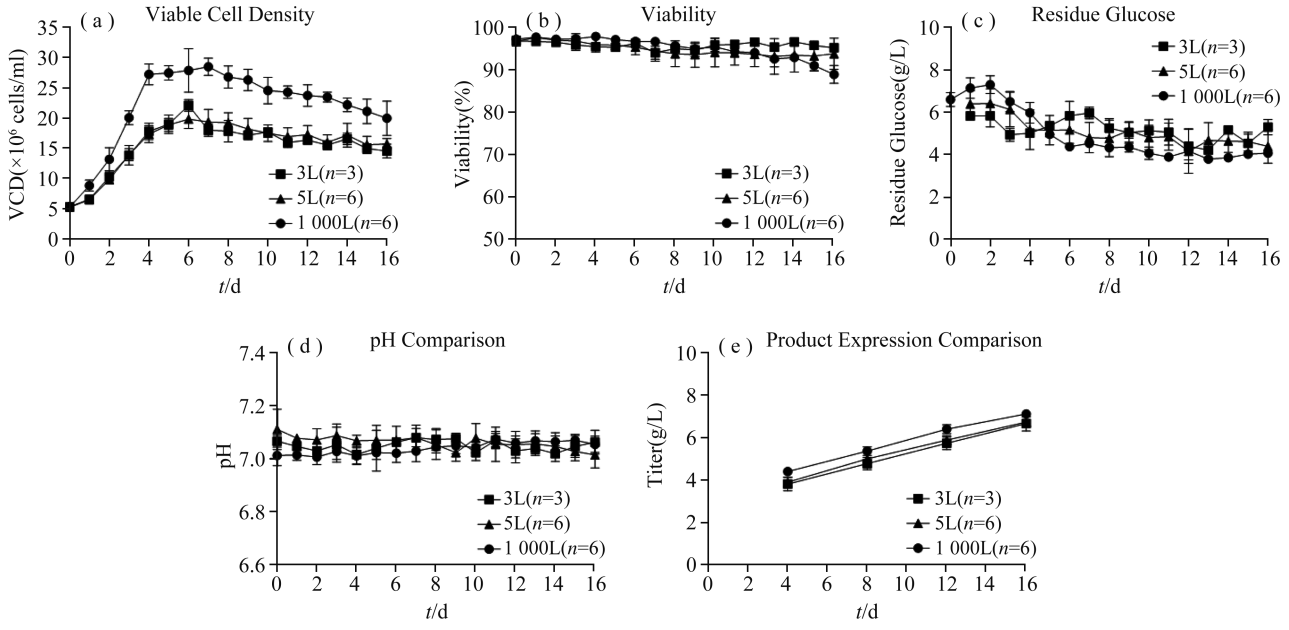
2.2 缩小工艺模型的建立与确认

为在可控条件下高效研究 pCPPs,并确保研究结论能够可靠地代表商业化生产规模,本研究成功建立并验证了与生产规模具有高度可比性的 3～5 L 缩小模型。模型缩放基于关键工程参数等效原则:对于 pH、温度和 DO 设定点等非体积依赖工艺参数,直接与生产规模保持一致;对于搅拌与通气等体积依赖工艺参数,则通过 P/V 相等和 VVM 一致的原则进行理论计算,并结合实际平台经验进行微调(如表 1 所示),以确保混合、氧传质及剪切力等关键物理环境与生产规模生物反应器相似。最终确定的 3～5 L 模型操作参数有效模拟了生产规模的混合、传质及剪切力环境。

表 1 基于关键工程参数等效的上游工艺缩小模型与生产规模缩放对比

Tab. 1 Comparison of scale-up from an upstream process scale down model based on equivalent key engineering parameters to production scale

参数		3 L 缩小模型	5 L 缩小模型	生产规模
反应器概况	罐体材质	玻璃	玻璃	不锈钢
	总体积	3.0 L	6.7 L	1465 L
	工作体积	2.5 L	5 L	1000 L
	培养模式	Fed-batch	Fed-batch	Fed-batch
	基础培养基	CHOM-B03	CHOM-B03	CHOM-B03
	补充培养基	CHOM-S03/S04	CHOM-S03/S04	CHOM-S03/S04
非体积依赖工艺参数	pH	6.8～7.2	6.8～7.2	6.8～7.2
	DO	40%	40%	40%
	温度	37 ℃、33 ℃	37 ℃、33 ℃	37 ℃、33 ℃
	补料比例	D0-D6:2.5%/0.25% D7-D16:2%/0.2%	D0-D6:2.5%/0.25% D7-D16:2%/0.2%	D0-D6:2.5%/0.25% D7-D16:2%/0.2%
体积依赖工艺参数	上罐体积	1.5 L	3 L	800 L
	搅拌速度	200～300 rpm	200～300rpm	35～55 rpm
	深层空气	0.7 mL/min	0.1 L/h	0.5 L/min
	表层空气	17 mL/min	3 L/h	12 L/min



注：(a) 活细胞密度；(b) 细胞活率；(c) 残糖浓度；(d) 培养 pH；(e) 表达量。

图 2　缩小模型和生产规模上游工艺性能可比性分析

Fig. 2　Comparability analysis of upstream process performance between scale down model and production scale

模型确认通过多批次(3 L，$n=3$；5 L，$n=6$)与生产规模历史数据($n=6$)的比较。如图 2 所示，尽管最终滴度在绝对数值上略低于生产规模，缩小模型与生产规模在细胞生长趋势、代谢动力学(葡萄糖消耗、乳酸生成)及 pH 控制上表现出高度一致性。

表 2　缩小模型与生产规模 CQAs 数据汇总及等效性分析

Tab. 2　Compilation and equivalence analysis of CQAs data between scale down model and production scale

CQAs	生产规模范围 (均值±3SD，$n=6$)	缩小模型范围 (均值±3SD，$n=6$)	等价区间/质量范围
IEX-酸性峰	20.7±2.8	21.1±4.8	(−2.78，2.78)
NR-CE-纯度	96.3±1.7	96.2±4.1	(−1.73，1.73)
R-CE-纯度	97.7±2.5	97.6±1.7	(−2.55，2.55)
HIC-峰 1	70.8±5.5	70.7±5.3	(−5.46，5.46)
HIC-峰 2	17.8±3.1	16.4±4.0	(−3.14，3.14)
HIC-峰 3	6.5±2.0	4.9±1.2	≤8.0
Man5	4.8±1.4	3.5±1.0	≤10%

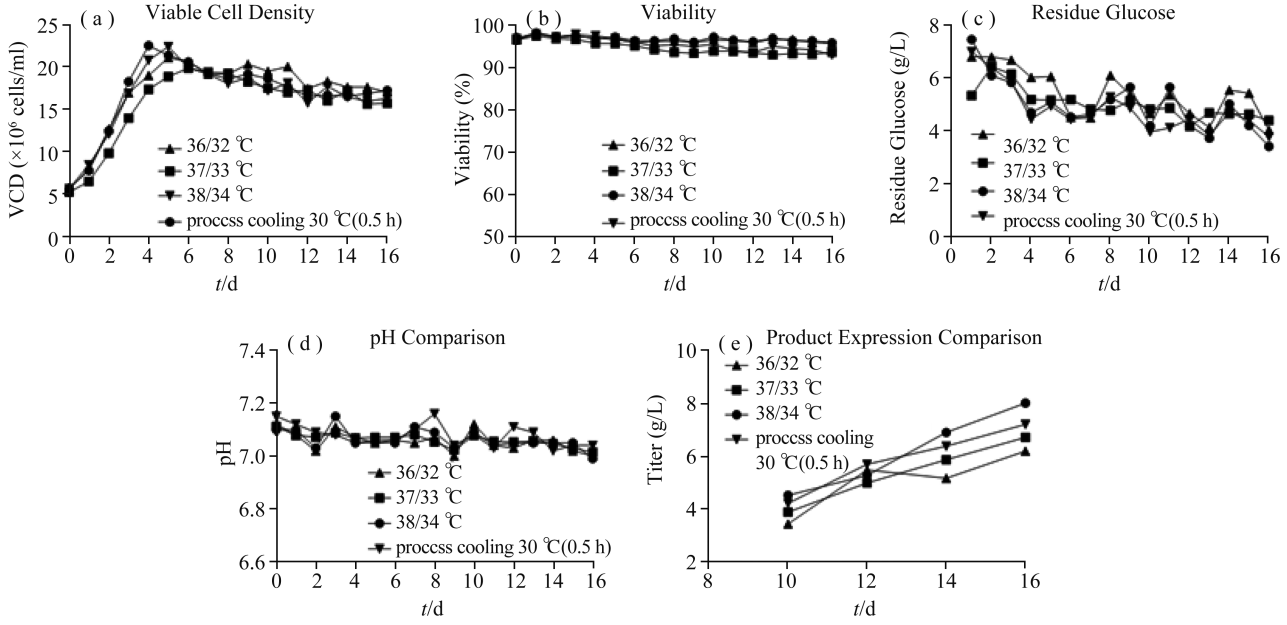
更为关键的是，对一系列 CQAs 的对比分析(表 2，补充图 1)显示，缩小模型生产的产品在电荷异质性(IEX 酸性峰)、纯度(CE-SDS)及糖型分布(Man5 比例)等检测属性上，均落在基于生产规模数据建立的等价区间或可接受质量范围。这全面验证了所建立缩小模型能够准确预测生产规模下的产品质量，为其作为可靠的工艺表征与优化平台奠定了坚实基础。本部分依据关键工程参数等效原则，成功建立了与生产规模具备高度可比性的 3～5 L 缩小工艺模型，并通过统计学方法验证了其在工艺性能与产品质量属性上的等效性，为后续进行深入工艺研究提供了可靠平台。

2.3　关键工艺参数的单因素影响分析

在已验证的缩小模型上，对 FMEA 识别的 pCPPs 进行了单因素范围研究，以明确其对工艺和质量的独立影响趋势，并初步确定其可接受的操作边界。

温度的影响(图 3，表 3)：研究表明，温度是调控细胞代谢和产物质量的核心参数。在设定的范围内(如生长期 36～38 ℃)，温度的变化影响非细胞密度 VCD 和最终产物滴度。较高的温度(38 ℃)条件下，获得了最高的表达量(8.0±0.3) g/L，但伴随而来的是 IEX 色谱中酸性峰比例显著升高。这表明高温在提升生产

效率的同时,可能通过影响代谢,增加产品的电荷异质性风险。此外,温度对特定糖型(如高甘露糖)比例也显示出影响趋势。



注:(a) 活细胞密度;(b) 细胞活率;(c) 残糖浓度;(d) 培养 pH;(e) 表达量。

图 3 不同培养温度对 CMAB007 细胞培养过程及产物表达的影响

Fig. 3 Impact of culture temperature on cell culture process and product expression of CMAB007

表 3 温度单因素研究对 CMAB007 对产品质量属性的影响

Tab. 3 Single-factor temperature study on the impact of CMAB007 product quality attributes

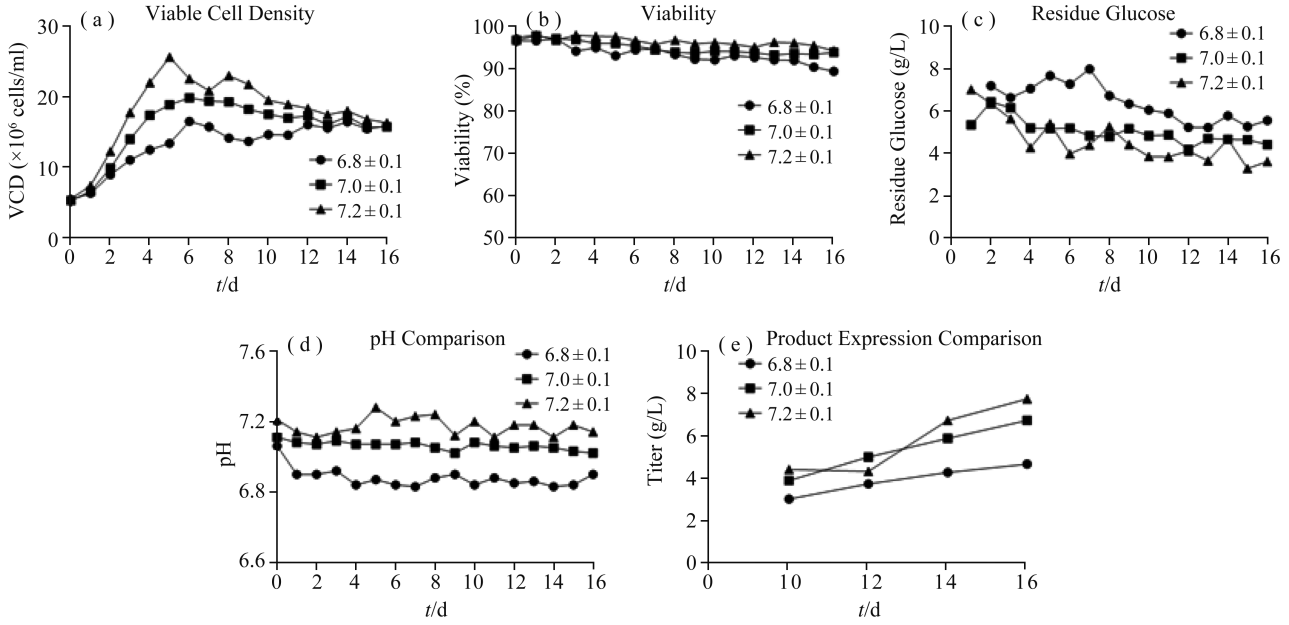
CQAs	低温 (36 ℃、32 ℃)	对照 (37 ℃、33 ℃)	高温 (38 ℃、34 ℃)	过程低温 30 ℃	可接受标准	结果
IEX-酸性峰	22.8	21.1	24.6	23.8	≤23.5	超标准
IEX-主峰	72.7	75.5	71.4	72.1	≥70.8	符合标准
IEX-碱性峰	4.4	3.5	4.1	4.0	≤7.3	符合标准
NR-CE-纯度	97.6	96.2	97.6	97.5	≥92.0	符合标准
R-CE-纯度	97.6	97.6	97.8	97.4	≥95.0	符合标准
HIC-峰 1	67.7	70.7	68.5	67.4	≥61.0	符合标准
HIC-峰 2	18.7	16.4	15.5	18.0	≤31.0	符合标准
HIC-峰 3	4.5	4.9	6.1	5.1	≤8.0	符合标准
Man5	3.0	3.5	3.7	3.4	≤10.0	符合标准

pH 值的影响(图 4,表 4):pH 在 6.8～7.2 范围内的变化显著影响细胞生长和产物表达。与 pH7.0 相比,低 pH6.8 抑制了细胞生长和产物合成,而高 pH7.2 则有利于获得更高滴度。然而,在质量属性方面,高 pH 条件同样引起了 IEX 酸性峰比例的上升。这表明,需要在提升产量的目标与控制特定 CQAs(如电荷变体)之间进行平衡,从而确定一个更优的 pH 操作窗口。

DO 与接种密度的影响:单因素研究表明,DO 在 20%～60%饱和度范围内对细胞生长和基础代谢影响相对温和,但需关注极端低氧可能引发的代谢流改变。接种密度在 3.0×10^6～8.0×10^6 cells/mL 范围内,较高的密度可缩短培养周期,但对最终滴度和主要 CQAs 的影响未呈现单一线性关系,提示其影响可能与其他参数存在交互作用。

单因素研究确认了温度、pH、DO 和接种密度均为影响 CMAB007 上游工艺性能与 CQAs 的 CPPs,并初步勾勒了各自的操作范围,为下一步深入探究多参数间的复杂交互作用提供了实验设计的基础。通过单因素实验明确了各参数对细胞生长、代谢及产物质量的基本影响趋势,进而可采用全因子 DOE 揭示参数间

的交互效应。



注：(a) 活细胞密度；(b) 细胞活率；(c) 残糖浓度；(d) 培养 pH；(e) 表达量。

图 4　不同培养 pH 对 CMAB007 细胞培养过程及产物表达的影响

Fig. 4　Impact of culture ph on cell culture process and product expression of CMAB007

表 4　pH 单因素对 CMAB007 产品质量属性的影响

Tab. 4　Single-factor study of pH on CMAB007 product quality attributes

项目	高 pH	对照批	低 pH	可接受标准	结果
IEX-酸性峰	23.6	21.1	18.6	≤23.5	略超标准
IEX-主峰	72.5	75.5	77.5	≥70.8	符合标准
IEX-碱性峰	3.9	3.5	3.9	≤7.3	符合标准
NR-CE-纯度	97.5	96.2	95.5	≥92.0	符合标准
R-CE-纯度	97.5	97.6	97.2	≥95.0	符合标准
HIC-峰 1	70.3	70.7	74.8	≥61.0	符合标准
HIC-峰 2	14.8	16.4	10.5	≤31.0	符合标准
HIC-峰 3	5.4	4.9	5.5	≤8.0	符合标准
Man5	3.6	3.5	4.4	≤10.0	符合标准

2.4　基于 DOE 的交互作用解析与稳健设计空间构建

为深入理解多个 CPPs 之间可能存在的协同或拮抗效应，本研究采用全因子实验设计，主要考察了对 CQAs 的交互影响。分析结果揭示了可能的交互影响(图 5)。

交互作用解析：除参数的主效应外，参数间存在显著的交互作用。例如，对于关键的电荷异质性属性(IEX 酸性峰比例)，不仅受温度和 pH 的独立影响，更受到温度与接种密度交互作用的显著调控。同时，温度、pH 与接种密度三者的协同效应对 IEX 主峰比例也产生了显著影响。这表明，控制电荷异质性并非依赖单个参数的精确控制，而需综合考虑多个参数组合的平衡。此外，温度与溶解氧的交互作用对产物分子大小异质性(通过 NR-CE 纯度反映)具有显著影响。这些发现揭示了 CMAB007 上游工艺控制的复杂性，是传统单变量优化方法难以获得的深层认知。

设计空间的定量化定义与验证：基于 DOE 数据建立的多元回归模型，通过蒙特卡洛模拟评估了在预设的参数变异下，CQAs 超出质量标准的风险。将总体缺陷率低于 1%的多维参数区域定义为稳健的操作设计空间(图 6)。为进一步指导生产，在设计空间内确定了 AR。AR 是经过验证的、更宽的操作边界，如温度 36.0～37.4 ℃，pH6.8～7.2，接种密度 3.0×10^6～6.3×10^6 cells/mL。在此范围内操作仍能保证产品合

格,为应对正常的生产波动提供了灵活性和操作弹性。

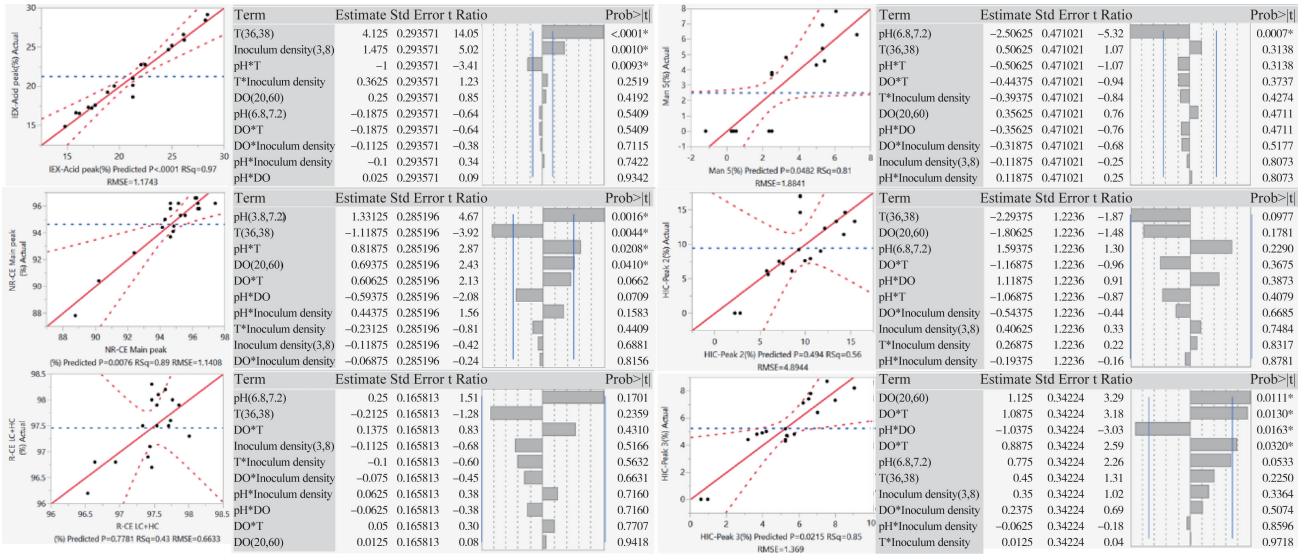


图 5　基于 DOE 的关键工艺参数主效应及交互作用分析

Fig. 5　Main effects and interaction analysis of critical process parameters based on design of experiments (DOE)

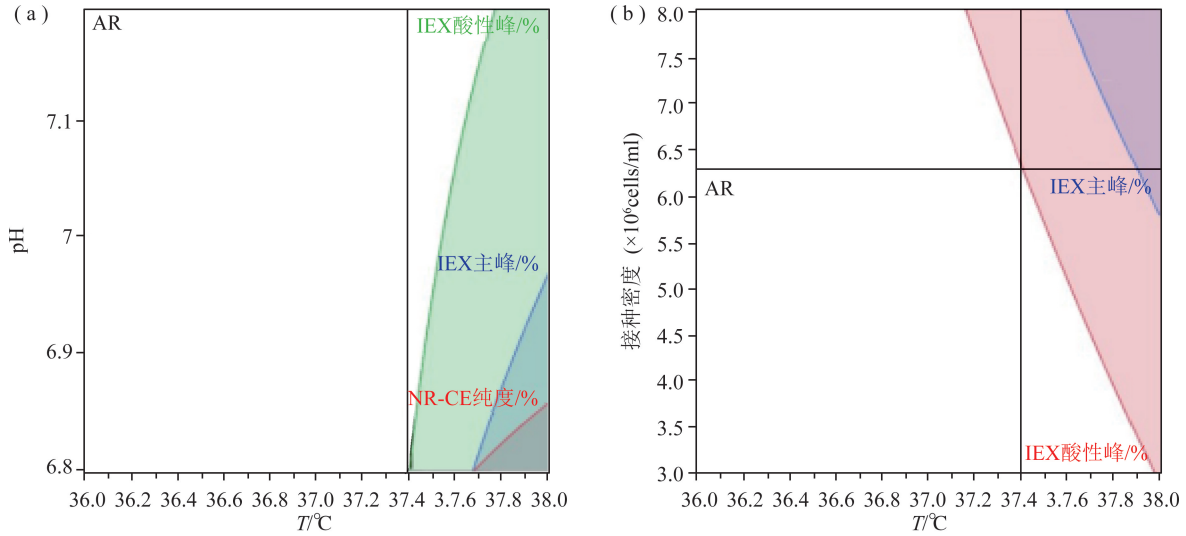


图 6　设计空间

Fig. 6　Design space

为挑战设计空间的边界稳健性,本研究执行了最差条件验证。在极端点组合条件下运行工艺,并模拟了可能的瞬时工艺扰动(如 DO 短暂降低)。结果表明,即使在最差的工艺条件下,所有批次产品的 CQAs 均符合既定质量标准,关键工艺性能指标(细胞活力、产物滴度)的波动也处于可接受限度内(如变化小于 15%)。这强有力地证明了,基于 QbD 框架通过系统工艺表征所建立的设计空间,赋予了该变更后生产工艺强大的内在稳健性,能够有效抵御预期的生产变异。

最终,研究量化了工艺失败风险,定义了一个兼具质量稳健性与生产效能的变更后工艺设计空间。最差条件验证结果表明,在设计空间边界甚至极端波动条件下,工艺仍能持续生产出所有关键质量属性符合标准且与原工艺及奥马珠单抗 α 原研产品保持高度可比性的产品,同时产物滴度得到显著提升。这充分证明了该优化后工艺具备强大的内在稳健性与生产灵活性。

3　结论

本研究以首个国产抗 IgE 抗体奥马珠单抗 α 的上市后工艺变更为案例,系统性地开展并完成了上游工

艺表征与设计空间构建研究。通过整合 FMEA、缩小模型技术、单因素实验及 DOE 等系统化方法，成功解析了关键工艺参数对 CMAB007 CQAs 的独立影响与复杂交互作用，并在此基础上建立了稳健的工艺设计空间。

本研究首次对 CMAB007 进行了系统性的上游工艺表征；完整演示了从风险识别、模型建立、交互作用解析到设计空间构建与验证的全链条 QbD 实践；成功应用于上市后变更这一高监管要求的场景，为解决“保障质量可比性”与“实现工艺提质增效”的双重挑战提供了经过验证的方法学范例。尽管如此，本研究所建立的方法学范式主要基于补料批次培养模式及 CHO 细胞表达体系，对于灌流培养等连续生产工艺，或翻译后修饰更为复杂的非抗体类生物制品，设计空间的构建策略可能需要针对特定的代谢通路特征与控制策略进行适应性调整，其普适性边界值得在后续研究中深入探讨。

综上，本研究不仅为 CMAB007 本次上市后工艺变更的合规申报与风险管控提供了坚实的科学数据支撑，所建立的系统方法论与实施策略也为其他抗体类药物乃至生物制品的全生命周期工艺优化与变更管理，提供了具备高度可操作性、可迁移性的实践参考，有力推动了基于科学和风险的先进制药理念在产业界的深入应用。未来的研究可进一步探索将本研究成果与过程分析技术及多变量统计过程控制(MSPC)相结合，突破静态设计空间的限制，构建具备自学习能力的动态工艺控制体系，以应对生物制造过程固有的时变性与不确定性。

参　考　文　献

[1] DOWLATI A, HUMMEL H D, CHAMPIAT S, et al. Sustained clinical benefit and intracranial activity of tarlatamab in previously treated small cell lung cancer: DeLLphi-300 trial update[J]. Journal of Clinical Oncology, 2024, 42(29): 3392-3399.

[2]CRESCIOLi S, REICHERT J M. Innovative antibody therapeutic development in China compared with the USA and Europe [J/OL]. Nature Reviews Drug Discovery, 2025: 1474-1784.

[3]CHAN A C, MARTYN G D, CARTER P J. Fifty years of monoclonals: the past, present and future of antibody therapeutics[J]. Nature Reviews Immunology, 2025, 25(10): 745-765.

[4]DEAVIN A, ADAM S, AUSBORN S, et al. Path forward to optimise post-approval change management and facilitate continuous supply of medicines and vaccines of high quality worldwide[J]. Therapeutic Innovation & Regulatory Science, 2023, 57(1): 7-11.

[5]ALSAMIL A M. Quality of biopharmaceuticals: Comparability exercise and post-approval surveillance[D]. Utrecht University, 2022.

[6]Wang X K, Zhang X Y, XU J, et al. High-concentration L-methionine as a potent antioxidant for oxidation resistance and stability enhancement in high-concentration antibody therapeutics[J]. International Journal of Pharmaceutics: X, 2025, 10: 100385.

[7] GEIGERT J. The challenge of demonstrating biopharmaceutical product comparability[M]. The challenge of CMC regulatory compliance for biopharmaceuticals. Cham: Springer Nature Switzerland, 2023: 499-526.

[8]WU Z Y, XU G L, HE W, et al. Comparability strategy and demonstration for post-approval production cell line change of a bevacizumab biosimilar IBI305[J]. Antibody Therapeutics, 2023, 6(3): 194-210.

[9]NIAZI S K. Scientific justification and policy recommendations to the US food and drug administration for waiving comparative efficacy studies[J]. Pharmaceuticals, 2025, 18(6): 779.

[10]FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, HHS. International conference on harmonisation; guidance on Q5E comparability of biotechnological/biological products subject to changes in their manufacturing process; availability. notice[J]. Federal Register, 2005, 70(125): 37861-37862.

[11]GOLi V A R, BUTREDDY A. Biosimilar monoclonal antibodies: challenges and approaches towards formulation[J]. Chemico-Biological Interactions, 2022, 366: 110116.

[12]RANJAN R. Development of complex generics and similar biological products: an industrial perspective of reverse engineering[J]. AAPS PharmSciTech, 2025, 26(4): 95.

[13]RAHALKAR H, SHEPPARD A, LOPEZ-MORALES C A, et al. Challenges faced by the biopharmaceutical industry in the development and marketing authorization of biosimilar medicines in BRICS-TM countries: an exploratory study[J]. Pharmaceutical Medicine, 2021, 35(4): 235-251.

[14]REGE P D, SCHUSTER A, LAMERZ J, et al. QbD approach to process characterization and quantitative criticality assessment of process parameters[J]. Organic Process Research & Development, 2024, 28(4): acs. oprd. 3c00356.

[15]HSUEH K L, LiN T Y, LEE M T, et al. Design of experiments for modeling of fermentation process characterization in biological drug production[J]. Processes, 2022, 10(2): 237.

[16]CHALLENER C A. Overcoming biosimilar scaling challenges[J]. Pharmaceutical Technology, 2025, 49(1): 20-22.

[17]TER HORST J P, TURIMELLA S L, METSERS F, et al. Implementation of quality by design (QbD) principles in regulatory dossiers of medicinal products in the european union (EU) between 2014 and 2019[J]. Therapeutic Innovation & Regulatory Science, 2021, 55(3): 583-590.

[18]DAYYIH W A, AWAD R. Revolutionizing drug development: The role of quality by design QbD) in modern pharmaceutical analysis[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences and Computational Chemistry, 2025, 1(1): 26-37.

[19]CHIRMULE N, GHALSASI V V. Approved: The life cycle of drug development[M]. Cham: Springer Nature Switzerland, 2025: 249-297.

[20]MASCARENHAS-MELO F, DIAZ M, GONÇALVES M B S, et al. An overview of biosimilars—development, quality, regulatory issues, and management in healthcare[J]. Pharmaceuticals, 2024, 17(2): 235.

[21]Wang X K, XU J, GUO Q C, et al. Improving product quality and productivity of an antibody-based biotherapeutic using inverted frusto-conical shaking bioreactors[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2024, 12: 1352098.

[22]Liu B N, GUO H Z, XU J, et al. Acid-induced aggregation propensity of nivolumab is dependent on the Fc[J]. mAbs, 2016, 8(6): 1107-1117.

[23]Liu T, XU J, GUO Q C, et al. Identification, efficacy, and stability evaluation of succinimide modification with a high abundance in the framework region of golimumab[J]. Frontiers in Chemistry, 2022, 10: 826923.

[24]徐梦娇, 刘涛, 徐进, 等. 英夫利西单抗糖化方法开发验证及其在抗体药物中的普适性[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2024, 37(5): 155-168.

[25]徐珺, 张大鹏, 王皓, 等. LC-MS对奥马珠单抗与其生物类似物CMAB007的分析与结构特征[J]. 生物工程学报, 2016, 32(4): 497-506.

[26]LAI K F, YAN Z J, Qian D H, et al. Benefits of CMAB007 in Chinese patients having inadequately controlled moderate/severe asthma with increased total IgE: a randomized phase 3 trial[J]. Allergy, Asthma & Immunology Research, 2026, 18(1): 39-54.

[27]郭怀祖, 杨美花, 杨汇川, 等. 生物制品病毒安全性控制的核心理念探讨[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(24): 2781-2788.

[28]Li Z M, FAN Z L, Wang X Y, et al. Factors affecting the expression of recombinant protein and improvement strategies in Chinese Hamster ovary cells[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2022, 10: 880155.

[29]KIM S M, Chang K H, OH D J. Effect of environmental parameters on glycosylation of recombinant immunoglobulin G produced from recombinant CHO cells[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2018, 23(4): 456-464.

(责任编辑:刘庆松)

(上接第1001页)

[18] Mcmullen M D, Kresovich S, Villeda H S, et al. Genetic properties of the maize nested association mapping population[J]. Science, 2009, 325(5941): 737-740.

[19] Ciganda V, Gitelson A, Schepers J. Vertical profile and temporal variation of chlorophyll in maize canopy: quantitative "crop vigor" indicator by means of reflectance-based techniques[J]. Agronomy Journal, 2008, 100: 1409-1417.

[20] Wang B Y, Gu S H, Wang J H, et al. Maximizing the radiation use efficiency by matching the leaf area and leaf nitrogen vertical distributions in a maize canopy: a simulation study[J]. Plant Phenomics, 2024, 6: 217.

[21] Yang X H, Gao S B, Xu S T, et al. Characterization of a global germplasm collection and its potential utilization for analysis of complex quantitative traits in maize[J]. Molecular Breeding, 2011,28(4): 511-526.

[22] Chen T W, Cabrera-bosquet L, Alvrez Pradao S, et al. Genetic and environmental dissection of biomass accumulation in multi-genotype maize canopies[J]. Journal of Experimental Botany, 2019,70(9): 2523-2534.

[23] Liu G Z, Yang Y S, Liu W M, et al. Leaf removal affects maize morphology and grain yield[J]. Agronomy, 2020, 10(2): 269.

[24] Nguyen C, Sagan V, BHADRA S, et al. UAV multisensory data fusion and multi-task deep learning for high-throughput maize phenotyping[J]. Sensors, 2023, 23(4): 1827.

[25] Tian J G, Wang C L, Chen F Y, et al. Maize smart-canopy architecture enhances yield at high densities[J]. Nature, 2024, 632(8025): 576-584.

(责任编辑:刘庆松)

文章编号 1672-6634(2026)06-1002-11 **DOI** 10.19728/j.issn1672-6634.2026010010

支撑材料

Supporting Information

奥马珠单抗 α(CMAB007)上市后变更的上游工艺表征与设计空间构建

陈一[1,2],郭清城[1,2,3,4],郭梦慧[1,2],崔新宇[1,2],吴聪圆[1,2],孟迪[1,2],王晨光[1,2,3,4],周朝欣[1,2,3,4],范文强[1,2,3,4],冀芦沙[1,2,3],钱卫珠[1,2,3,4],侯盛[1,2,3,4],李军[1,2,3],孙梓乔[1,2,3],王学堃[1,2,3],郭亚军[1,2,3],张大鹏[1,2,3,4],徐进[1,2,3],郭怀祖[1,2,3]

(1. 聊城大学 药学与食品工程学院、大分子药物与规模化制备全国重点实验室,山东 聊城 252059;2. 张江生物技术有限公司大分子药物与规模化制备全国重点实验室、国家药品监督管理局治疗类单抗质量控制重点实验室,上海 201203;
3. 温州医科大学 药学院、大分子药物与规模化制备全国重点实验室,浙江 温州 325035;
4. 泰州迈博太科药业有限公司,江苏 泰州 225316)

Upstream process characterization and design space for post-approval change of omalizumab α (CMAB007)

CHEN Yi[1,2], GUO Qingcheng[1,2,3,4], GUO Menghui[1,2], CUI Xinyu[1,2], WU Congyuan[1,2], MENG Di [1,2], WANG Chenguang[1,2,3,4], ZHOU Chaoxin[1,2,3,4], FAN Wenqiang[1,2,3,4], JI Lusha[1,2,3], QIAN Weizhu[1,2,3,4], HOU Sheng[1,2,3,4], LI Jun[1,2,3], SUN Ziqiao[1,2,3], WANG Xuekun[1,2,3], GUO Yajun[1,2,3], ZHANG Dapeng[1,2,3,4], XU Jin[1,2,3], GUO Huaizu[1,2,3]

(1. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, School of Pharmaceutical Sciences and Food Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 2. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Therapeutic Monoclonal Antibodies, Shanghai Zhangjiang Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. State Key Laboratory of Macromolecular Drugs and Large-Scale Preparation, School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China;
4. Taizhou Mabtech Pharmaceuticals Co., Ltd., Taizhou 225316, China)

表 S1 上游工艺 FMEA 风险评估评分表

Tab. S1 Risk assessment scoring table for upstream process FMEA

培养工序	工艺参数	严重性 S(2-10)	发生率 O(2-10)	可检测性 D(2-10)	风险优先数 RPN
培养基及补料配制	温度	9	2	2	36
	搅拌	9	2	2	24
一级种子培养	温度	2	2	9	36
	摇床转速	2	2	8	32
	CO2 浓度	2	2	8	32

	搅拌转速	2	2	9	36
	温度	2	2	9	36
后续各级种子培养	pH	2	2	8	32
	DO	1	3	8	24
	接种密度	2	3	3	18
	搅拌转速	2	2	9	36
	接种密度	4	3	3	36
	培养温度	4	2	9	72
批次生产	pH 值	4	2	8	64
	DO	1	7	8	56
	培养周期	6	1	8	48
	代次	9	3	1	27
后处理	过滤压力	1	3	5	15

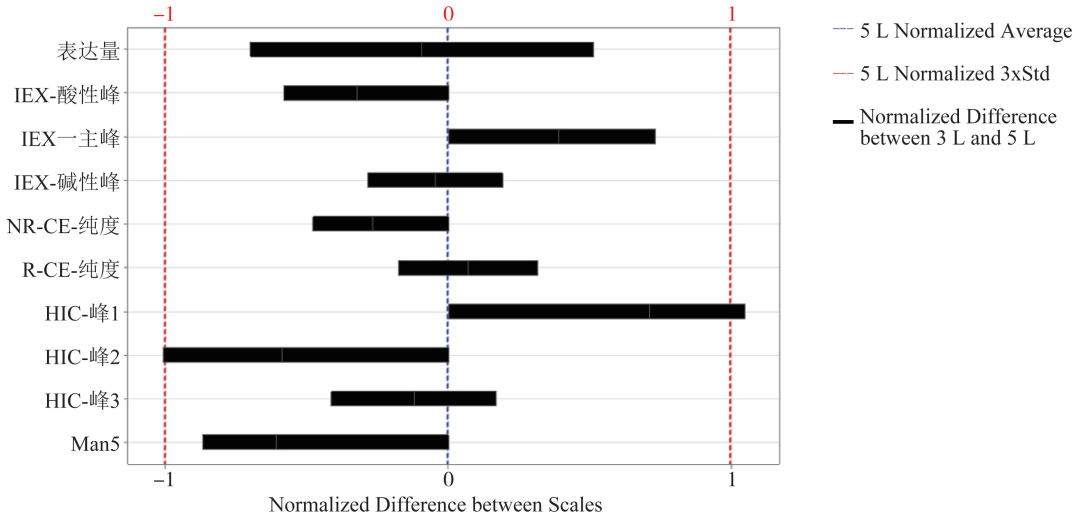


图 S1　缩小模型产品质量属性等效性分析

Fig. S1　Equivalence analysis of product quality attributes between scale down models

(责任编辑:刘庆松)